



Dziękuję  
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego  
wpłynęło dn. 2019-01-03  
podpis AJ l.dz. 2

**II DEPARTMENT OF GYNECOLOGY  
MEDICAL UNIVERSITY IN LUBLIN**  
Chairman of Department: *Professor Tomasz Rechberger, M.D, Ph.D.*

20-954 Lublin, 8 Jaczewski St., POLAND, tel. +48/81 72 44 268,  
72 44 688, 72 44 686; fax + 48/81 72 44 849

Lublin, dnia 20.12.2018 r.

**Recenzja dysertacji doktorskiej lek. med. Jakuba Malinowskiego zatytułowanej  
„Genetyczne predyspozycje do raka endometrium – analiza polimorfizmu  
pojedynczych nukleotydów C1772T genu HIF-1 $\alpha$ ”**

Rozrosty oraz rak endometrium należą do najczęściej występujących patologii ginekologicznych w krajach rozwiniętych. Aktualnie rozróżniamy dwa rodzaje nowotworów endometrium: typ I (endometrialny – rozwijający się na bazie rozrostów endometrium) oraz typ II (nie-endometrialny). Typ I nowotworu jest ewidentnie estrogenozależny, a do jego rozwoju dochodzi najczęściej u kobiet w okresie perimenopauzy lub wczesnego okresu menopauzalnego. Zazwyczaj nowotworom takim towarzyszą atypowe rozrosty endometrium. Rokowanie w tych przypadkach jest zazwyczaj pomyślne pod warunkiem wdrożenia, w odpowiednio wczesnym zaawansowaniu schorzenia, właściwego leczenia. W przeciwieństwie do tego nowotwory nie-endometrialne są zazwyczaj estrogeno-niezależne i rozwijają się u starszych kobiet w zaawansowanej menopauzie i, co ciekawe, ich rozwój nie jest poprzedzony atypową hyperplazją endometrium. Ponadto nowotwory nie-endometrialne dają odległe przerzuty już w momencie stawiania diagnozy, a rokowanie w ich przypadku jest zdecydowanie gorsze pomimo stosowania agresywnego leczenia. Nowotwory typu I (endometrialnego) stanowią około 80% schorzeń nowotworowych błony śluzowej macicy, podczas gdy typ II (nie-endometrialny, surowiczny) pozostałe 20%.

Niektóre molekularne uwarunkowania procesu kancerogenezy w obrębie endometrium zostały częściowo poznane, ale istota molekularnej patogenezy tego zjawiska pozostaje ciągle tajemnicą. Spośród genetycznych uwarunkowań mogących odgrywać istotne znaczenie w etiopatogenezie raka endometrium należy wziąć pod uwagę: 1) niestabilności mikrosatelitarne (MSI), które często skojarzone są z mutacjami i hypermetylacją genów odpowiedzialnych za naprawę DNA (geny MLH1, MSH2

i MSH6); 2) mutacje genów supresorowych - PTEN, odpowiedzialnych za migrację i proliferację komórek guza; 3) mutację protoonkogenu k-RAS, odpowiedzialnego za proliferację komórek; 4) mutacje genu  $\beta$ -kateniny, odpowiedzialnego za progresję i przerzutowanie guza. Z drugiej strony nowotwory typu II (surowicze) powstają często w następstwie mutacji genu p53, amplifikacji genu HER-2/neu oraz utraty heterozygotyczności obejmującej chromosomy 3p, 10q, 17p i 18p. Ostatnio wykazano także, że w nowotworach estrogenozależnych (typu I) dochodzi do heperekspresji proto-onkogenu RUNX1/AML1. Oczywiście opisane powyżej uwarunkowania molekularne nie dotyczą wszystkich przypadków i dlatego nie zawsze można optymalnie zaplanować indywidualny plan leczenia. Tak więc każde badanie naukowe zmierzające do zoptymalizowania leczenia u konkretnej pacjentki zasługuje na wnikliwą analizę. Dlatego uważam, że wybór tematu pracy doktorskiej przez lek. med. Jakuba Malinowskiego jest niezwykle trafny, ponieważ jej ostatecznym celem jest próba poszukiwania skutecznych metod prognostycznych w leczeniu schorzenia, które w chwili obecnej jest prawdziwym wyzwaniem diagnostycznym i terapeutycznym dla ginekologów-onkologów.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska pt. „**Genetyczne predyspozycje do raka endometrium – analiza polimorfizmu pojedynczych nukleotydów C1772T genu HIF-1 $\alpha$** ” ma układ typowy dla tego typu opracowań i zawarta jest na 110 stronach bardzo starannie przygotowanego maszynopisu. W bardzo dobrze napisanym wstępie Autor omawia epidemiologię, histopatologię oraz etiopatogenezę raka endometrium ze szczególnym uwzględnieniem genetycznych czynników ryzyka rozwoju schorzenia. W kolejnych podrozdziałach Doktorant szczegółowo opisuje cechy kliniczno patologiczne różnych raków endometrium oraz stopnie ich zróżnicowania histologicznego. Różnice między I i II typem raka endometrium Doktorant podsumowuje w Tabeli II. W kolejnej części wstępu Autor opisuje klasyfikacje kliniczno zaawansowania raka endometrium wyszczególniając istotne różnice pomiędzy klasyfikacją FIGO z roku 1988 a aktualnie obowiązującą z roku 2009. Kolejne rozdziały poświęcone są objawom klinicznym, diagnostyce i leczeniu schorzenia w zależności od agresywności choroby. Szczególnie interesujący jest rozdział poświęcony molekularnym aspektom nowotworzenia w endometrium z podkreśleniem roli niestabilności mikrosatelitarnych oraz mutacji genu PTEN, K-ras, p-53 oraz  $\beta$ -kateniny w etiopatogenezie schorzenia. Następnie Autor w sposób krytyczny i świadczący o dobrej znajomości tematu opisuje rolę pojedynczych polimorfizmów genu HIF-1 $\alpha$  w procesie nowotworzenia ze szczególnym uwzględnieniem jego znaczenia w etiopatogenezie nowotworów narządów płciowych u kobiet. Ponieważ aktualnie zidentyfikowano ponad 100 genów docelowych regulowanych przez HIF-1 $\alpha$  omówienie szczegółowe roli tego genu w procesie nowotworzenia jest niezwykle trudne lub wręcz niemożliwe. Tym bardziej sposób w jaki przedstawił to **Doktorant** zasługuje na najwyższe uznanie.



Cel pracy jest jasno sformułowany i dotyczy oceny roli polimorfizmu pojedynczych nukleotydów genu HIF-1 $\alpha$  jako czynnika ryzyka rozwoju nowotworu endometrium, poprzez ocenę częstości występowania genotypów C/C, C/T i T/T oraz alleli C i T w grupie 100 pacjentek z rakiem endometrium leczonych w Klinice Ginekologii Operacyjnej w latach 2003-2012. Grupę kontrolną stanowiły próbki DNA uzyskane od 100 dobranych wiekowo kobiet u których choroba nowotworowa nie występowała. Wśród kobiet z rakiem endometrium stwierdzono 40 przypadków stopnia zróżnicowania G1, 52 przypadki zróżnicowania G2 i 8 przypadków G3. Stopień zaawansowania choroby wg klasyfikacji FIGO przedstawiał się następująco: IA – 55 przypadków, IB – 29 przypadków, IIIA – 5 przypadków, IIIB – 4 przypadki i IIIC1 – 7 przypadków. DNA wyizolowano z bloczków parafinowych wg standardowego protokołu, a następnie przeprowadzono reakcje PCR-RFLP w celu analizy polimorfizmu pojedynczych nukleotydów 1772C/T genu HIF-1 $\alpha$ . Analiza statystyczna rozkładu genotypów oraz alleli w grupie badanej i kontrolnej została przeprowadzona po stwierdzeniu, że otrzymane układy pozostawały w stanie równowagi wg reguły Harde'go-Weinberga. Następnie ocenę genotypów i alleli względem analizowanych cech klinicznych i demograficznych przeprowadzono poprzez analizę ilorazu szans oraz 95% przedziału ufności, które obliczano stosując model regresji logistycznej przyjmując wartość  $p < 0,05$  za istotną statystycznie.

Metodyka badań oraz zastosowana metoda statystyczna nie budzi żadnych zastrzeżeń i jest odpowiednia dla tego typu opracowań. Na szczególne podkreślenie zasługuje zgromadzenie aż 100 pacjentek z nowotworem endometrium w różnych stopniach zaawansowania klinicznego. Należy tylko żałować, że Autor nie uwzględnił w swoim opracowaniu pacjentek z typem II nowotworu endometrium, ponieważ ten typ jest bardziej agresywny oraz dużo gorzej rokujący. Wydaje mi się również, że ocena ekspresji genu HIF-1 $\alpha$  oraz polimorfizmu jego pojedynczych nukleotydów powinna być skorelowana z ostatecznym wynikiem leczenia, co nie powinno Autorowi sprawić zbyt wiele trudności ponieważ analizie poddano pacjentki operowane w latach 2003-2012, a więc ocena 5-letniego okresu przeżycia i konieczności stosowania bądź nie terapii uzupełniającej była możliwa do przeprowadzenia zwłaszcza, że analizowany materiał kliniczny pochodził z macierzystej Kliniki Doktoranta. Ponadto sugestie takie były już zawarte w pracy Wanga i wsp. (2006) i wykonanie takiej analizy znacznie zwiększyłoby atrakcyjność kliniczną pracy. Na podstawie uzyskanych wyników statystycznych Autor wysnuł 4 wnioski wynikające ściśle z danych uzyskanych z badanych próbek DNA. W bardzo dobrze napisanej dyskusji Doktorant w sposób krytyczny analizuje uzyskane wyniki badań konfrontując je z dostępnymi bardzo nielicznymi danymi literaturowymi dotyczącymi tego fascynującego zagadnienia. Ponieważ dostępna szczegółowa literatura przedmiotu (dotycząca *stricte* raka endometrium) liczy tylko 2 pozycje (co niewątpliwie świadczy o oryginalności tematu dysertacji) Autor rozpatruje uzyskane wyniki w szerszym kontekście występowania choroby nowotworowej o różnej lokalizacji tkankowej, co w sposób logiczny tłumaczy niejednoznaczne wyniki w zależności od lokalizacji tkankowej nowotworu.

Trudno jest jednak zrozumieć fakt niezgodności wyników uzyskanych w tej pracy z danymi dotyczącymi raka endometrium prezentowanymi przez Kafshdooz i wsp oraz Konac i wsp. zwłaszcza w kontekście pracy Tanimoto i wsp. sugerującej, że allel T może wpłynąć na progresję choroby poprzez zwiększenie zdolności transaktywacji HIV-1 $\alpha$ . Jedynym prawdopodobnym wytłumaczeniem tego faktu mogą być interakcje genowe oraz interakcje gen-środowisko, które są bardzo trudne do oszacowania. Całość uzupełniają 224 pozycje literaturowe umiejętnie cytowane w pracy, oraz streszczenia w językach polskim i angielskim doskonale oddające meritum sprawy.

**Uwagi szczegółowe:**

Str. 3. Nowotwory stanowią główną przyczynę śmierci ludzi na świecie. Na szczęście tak nie jest. Główną przyczyną śmierci są choroby sercowo-naczyniowe.

Str. 19 jest: z następowym leczeniem. W słowniku języka polskiego nie ma słowa następowy.

Str. 53 i dalej – w tekście całej pracy przy prezentacji wyników Autor pisze o ilorazie szans (ang. odds ratio – OR , oraz przedziale ufności PU podczas gdy powszechnie używany jest jednak angielski skrót CI – confidence interval) Należy więc przed opublikowaniem pracy ujednoczyć te kwestie

Str. 76 jest pochodzenia Kaukaskiego podczas gdy na str. 80 jest poprawnie z małej litery rasy kaukaskiej

Te drobne uwagi, głównie natury redakcyjnej, nie wpływają oczywiście na generalnie wysoce pozytywną opinię o przedstawionej mi do recenzji pracy zatytułowanej **„Genetyczne predyspozycje do raka endometrium – analiza polimorfizmu pojedynczych nukleotydów C1772T genu HIF-1 $\alpha$ ”**.

Recenzowana przeze mnie powyższa rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn. zm. i dlatego wnoszę do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie **lek. med. Jakuba Malinowskiego** do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie dysertacji doktorskiej ze względu na jej oryginalność i wartość merytoryczną.



*Prof. zw. dr hab. n med. Tomasz Rechberger*